ПАРАЗИТОЛОГИЯ, XII, 2, 1978

УДК 576.895.772 : 591.43

УЛЬТРАСТРУКТУРА ЭПИТЕЛИЯ СРЕДНЕЙ КИШКИ СЛЕПНЯ HYBOMITRA SCHINERI (TABANIDAE)

С. Ю. Чайка

Биологический факультет Московского государственного университета

Электронномикроскопическое изучение средней кишки слепня *H. schineri* показало, что клетки эпителия имеют цилиндрическую форму. По степени электронной плотности цитоплазмы выделено 3 подтипа клеток. Апикальная поверхность всех клеток представлена микроворсинками с нитчатым гликокаликсом. Перитрофическая оболочка образуется у самок только в период переваривания крови, а при углеводном питании не образуется вовсе. Обнаружены два типа секреции пищеварительных ферментов (мерокриновый и макроапокриновый), причем последний тип преобладает при углеводном питании.

Хотя экспериментально показано участие слепней в сохранении некоторых возбудителей болезней (Гробов, 1964; Алексеев с соавт., 1969), в большинстве случаев слепни являются механическими переносчиками возбудителей вирусных, риккетсиозных и бактериальных инфекций (Лутта, 1970).[1] Так как для многих патогенных агентов организм слепней является своеобразным биологическим «тупиком», их изучение может, по-видимому, способствовать решению общепаразитологической проблемы специфических паразитарных отношений. Известно, что способность разных групп членистоногих к передаче возбудителей наряду с другими факторами определяется морфофизиологическими особенностями членистоногих (Балашов, 1974).

В связи с этим представляется существенным изучение с помощью современных методов многих систем и органов слепней и в первую очередь пищеварительного тракта. Однако к настоящему времени даже гистология пищеварительной системы слепней изучена очень слабо; имеется лишь две работы, выполненные на гистологическом уровне (Cragg, 1920; Wigglesworth, 1931). Поэтому нами предпринято изучение ультраструктурной организации эпителиальных клеток средней кишки слепня *Hybomitra schineri* Lyneborg.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Изучались самки слепней *H. schineri*, отловленные в природе и содержавшиеся затем в садках на углеводной пище (3%-й раствор глюкозы). Кормление слепней кровью осуществлялось на человеке. Для гистологического изучения отпрепарированный кишечник фиксировали в Буэне, заливали в парафин и изготовляли срезы толщиной 6—8 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином по Делафильду. Для электронномикроскопической работы части кишечника фиксировали в 2.5%-м растворе глутарового альдегида на фосфатном буфере в течение 2 ч при 4° С, а затем в 2%-м растворе четырехокиси осмия на том же буфере. При обезвоживании в серии спиртов материал контрастировался раствором уранилацетата в 70°-м спирте. Материал заливали в смесь смол эпона. Ультратонкие срезы окрашивали цитратом свинца по Рейнольдсу и изучали в электронном микроскопе JEM-100B.

---

[1] Специфическими могут рассматриваться только связи слепней рода *Chrysops* с нитчатым червем *Loa loa*, который проходит часть цикла своего развития в организме слепней.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Однослойный эпителий средней кишки собран в большие складки, которые глубоко вдаются в ее полость (рис. 8, 10). Обильное развитие складок и частичное налегание их друг на друга создает впечатление многослойности эпителия, в особенности при просмотре препаратов в световом микроскопе. Эпителий средней кишки полностью распластывается только после принятия полной порции крови, однако через некоторое время после начала пищеварения (на наших препаратах через сутки) можно снова видеть значительное число складок эпителия.

Эпителиальные клетки средней кишки представлены цилиндрическим или столбчатым типом, а высота, форма и электронная плотность зависят от их физиологического состояния. Средняя высота клеток равна 60—75 мкм, а диаметр ядер — около 17 мкм. В средней кишке слепней можно выделить 3 подтипа клеток, отличающихся преимущественно электронной плотностью цитоплазмы.

Наиболее широко представлены клетки I подтипа, имеющие цитоплазму с большой электронной плотностью (рис. 1). Клетки этого подтипа расположены также в основании крипт в области регенерационных гнезд. Цитоплазма клеток заполнена большим числом митохондрий, свободнолежащими и связанными с мембранами рибосомами. В клетках обильно представлены цистерны эндоплазматической сети, а также округлые или бесформенные гомогенные электронноплотные включения, являющиеся, по-видимому, скоплениями секрета. Гранулы секрета этих клеток сравнительно невелики — 0.1 мкм.

Клетки II подтипа имеют цитоплазму средней электронной плотности (рис. 2, 3, 4). Цитоплазма сплошь заполнена органеллами, в особенности многочисленными свободнолежащими рибосомами и полисомами. Значительный объем клеток занимает гранулярная эндоплазматическая сеть и митохондрии. В клетках обнаруживаются микротрубочки и пузырьки. Размеры гранул секрета варьируют от 0.08 до 1.5 мкм.

Клетки III подтипа имеют очень слабую электронную плотность, что связано со сравнительно редким расположением цитоплазматических органелл (рис. 5). Тем не менее в цитоплазме этих клеток встречаются основные клеточные органеллы: митохондрии, свободные рибосомы, шероховатая эндоплазматическая сеть, мультивезикулярные тела, микротрубочки. В клетках встречаются также секреторные гранулы, имеющие диаметр 0.08—0.5 мкм. Клетки последнего подтипа расположены главным образом на вершине складок эпителия. По-видимому, эти клетки завершили свою секреторную деятельность и находятся на стадии, предшествующей дегенерации, так как фрагменты этих клеток можно видеть в полости средней кишки.

Апикальная поверхность всех клеток кишечника представлена микроворсинками (рис. 1, 2, 4, 5, 6). Длина микроворсинок достигает 3.5, а диаметр равен 0.15 мкм. Наружная поверхность микроворсинок клеток средней кишки покрыта слоем гликокаликса, который относится к нитчатому типу (рис. 6). Длина нитей гликокаликса равна 15—20 нм. Значительное число нитей гликокаликса расположено между микроворсинками, что свидетельствует о периодическом обновлении гликокаликсного покрытия микроворсинок.

Микроворсинки расположены довольно плотно и при удачной плоскости среза наблюдается их гексагональное размещение. В среднем на площади в 1 мкм^2 насчитывается до 30 микроворсинок. Иногда можно видеть ветвление микроворсинок. Внутри микроворсинок располагаются микротрубочки диаметром 20—22 нм. Характерно, что микротрубочки ворсинок прослеживаются в цитоплазме клеток на расстоянии, превышающем 1 мкм от основания микротрубочек.

Основание большинства клеток преобразовано в так называемый базальный лабиринт (рис. 7). Последний представлен многочисленными извитыми выростами цитоплазмы, в которых располагаются главным образом митохондрии и мультивезикулярные тела. Характерной особенностью базального лабиринта является его повышенная электронная плотность, что связано, по-видимому, с участием в интенсивных обменных процессах. К основанию базального лабиринта тесно примыкает аморфная базальная мембрана шириной 0.5—1.0 мкм (рис. 7).

До настоящего времени противоречивы сведения о наличии в средней кишке слепней перитрофической оболочки. Так, по одним данным (Cragg, 1920; Wigglesworth, 1931; Crewe, 1961) у слепней нет перитрофической оболочки, а по другим (Олсуфьев, 1940; Жужиков, 1963; Лутта, 1970) — она имеется.

Проведенное нами гистологическое исследование средней кишки слепня подтверждает данные последних авторов. На срезах через среднюю кишку слепней, зафиксированных через сутки после кровососания, обнаруживается хорошо развитая перитрофическая оболочка I типа, толщина которой варьирует от 20 до 120 мкм (рис. 8). Хорошо выражена ее слоистость. Перитрофическая оболочка образуется у слепней только после принятия крови и сохраняется в период переваривания последней. В конце переваривания перитрофическая оболочка распадается и выбрасывается из кишечника при дефекации. При углеводном питании слепней перитрофическая оболочка не образуется (рис. 10).

При изучении эпителиальных клеток средней кишки на световом и электронном микроскопах обнаружены два типа секреции пищеварительных ферментов: макроапокриновый и мерокриновый. Первый тип секреции преобладает при углеводном питании, а при питании кровью он обнаруживается только до образования перитрофической оболочки. При переваривании крови, когда в средней кишке имеется сформированная перитрофическая оболочка, макроапокриновая секреция не обнаруживается, а выделение пищеварительных ферментов осуществляется, по-видимому, только по мерокриновому типу.

На границе между средней и задней кишкой, в месте впадения в кишечник мальпигиевых сосудов, поверхность клетки, выходящая в полость кишки, покрыта кутикулярной интимой толщиной до 1 мкм. Характерной особенностью клеток этой зоны является мощное развитие внутриклеточных вакуолей и цитоплазматических складок (рис. 9). Последние содержат преимущественно митохондрии и гранулы, морфологически сходные с гранулами гликогена.

ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение гистологии и ультраструктуры средней кишки слепней показало, что ее эпителиальные клетки относятся к цилиндрическому или столбчатому типу, что характерно для многих представителей низших кровососущих двукрылых (Hecker, Freyvogel, 1971; Richards, 1975). Нами не были найдены бокаловидные клетки — другой широко распространенный у насекомых тип кишечных клеток. Клетки, различающиеся по своей электронной плотности, не являются, по-видимому, самостоятельными типами, а представляют собой разные физиологические стадии одних и тех же клеток.

Отсутствие резких морфологических различий между клетками эпителия средней кишки дает основание считать, что все или по крайней мере большинство из них имеют двойственную функцию — образования пищеварительных ферментов и всасывания продуктов переваренной пищи.

Светлые и темные клетки были описаны в средней кишке поденки *Palingenia longicauda* (Csoknya, Halacz, 1973) и мухи *Calliphora erythro-*

cephala (Priester, 1971). Предполагается, что темные клетки ответственны преимущественно за секрецию ферментов, а светлые — за всасывание продуктов пищеварения (Csoknya, Halasz, 1973). Наши данные подтверждают это мнение по крайней мере в отношении функций клеток I и II подтипов. Так, большое количество рибосом, сильное развитие мембран эндоплазматической сети, наконец, значительное число секретоподобных включений, встречающихся в цитоплазме клеток, свидетельствуют об интенсивных процессах синтеза этих клеток.

Нами обнаружены два типа выделения пищеварительных ферментов (макроапокриновый и мерокриновый), причем первый тип секреции наблюдается при углеводном питании, а при питании кровью только до образования в средней кишке перитрофической оболочки. В литературе имеются данные о преимущественном развитии того или иного типа секреции в зависимости от физиологического состояния насекомых. Так, по данным одних авторов (Khan, 1964), при нормальном физиологическом состоянии у насекомых наблюдается мерокриновая секреция пищеварительных ферментов, а при длительном голодании преобладает голокриновая, а по данным других авторов (Srivastava, 1955) — наоборот. По-видимому, тип секреции пищеварительных ферментов весьма различен у насекомых и зависит как от физиологического состояния насекомого в момент принятия пищи, так и от того ведущего типа секреции, который преобладает у насекомых данной филогенетической ветви.

Апикальная поверхность всех клеток средней кишки представлена микроворсинками, которые покрыты слоем гликокаликса. Известно, что гликокаликс представляет собой составную часть мембраны микроворсинок и служит структурной основой мембранного (пристеночного) пищеварения. Следует отметить, что гликокаликс микроворсинок определяет важные свойства клеточной поверхности — абсорбцию, транспорт веществ, иммунологическое поведение, — а иногда и предотвращает проникновение в клетку вирусов, бактерий или других микроорганизмов (Уголев, 1972).

В заключение следует особо отметить наличие в средней кишке слепней хорошо развитой перитрофической оболочки. С наличием в средней кишке перитрофической оболочки не раз связывалось отсутствие специфических взаимоотношений насекомых с некоторыми возбудителями болезней, хотя это и не всегда экспериментально подтверждалось. Материалы настоящего исследования не дают возможности однозначно говорить о возможной барьерной роли перитрофической оболочки у слепней, хотя такая роль перитрофической оболочки не должна выпадать из поля зрения исследователей.

Литература

Алексеев А. Н., Чиров П. А., Кадышева А. М., Свириденко В. Ф. 1969. Сохранение, размножение и выделение во внешнюю среду возбудителей листериоза (Listeria monocytogenes) и безжелтушного лептоспироза (Leptospira grippotyphosa) слепнями (Tabanidae) в экспериментальных условиях. Мед. паразитолог. и паразитарн. болезни, 38 (5) : 583—588.

Балашов Ю. С. 1974. Морфо-физиологические факторы передачи возбудителей кровососущими членистоногими. Материалы VII съезда ВЭО, 1 : 201—202.

Гробов О. Ф. 1964. О сохранении Anaplasma marginale в организме слепней. В кн.: Природная очаговость болезней и вопросы паразитологии, Фрунзе : 147—148.

Жужиков Д. П. 1963. Строение перитрофической оболочки двукрылых. Вестник МГУ, сер. 6, № 1 : 24—35.

Лутта А. С. 1970. Слепни (Diptera, Tabanidae) Карелии. «Наука», Л. : 1—304.

Олсуфьев Н. Г. 1940. Двойственный характер питания и половой цикл у самок слепней (Diptera, Tabanidae). Зоол. журн., 19 (3) : 445—455.

Уголев А. М. 1972. Мембранное пищеварение. Полисубстратные процессы, организация и регуляция. «Наука», Л. : 1—356.

Cragg F. W. 1920. Secretion and epithelial regeneration in the mid-intestine of Tabanus. Indian. J. med. Res., 7 (3) : 648—663.

Crewe W. 1961. The rate of development of larvae of Loa loa in Chrysops silacea at Kumba, and the effect of temperature upon it. Ann. trop. Med. parasit., 55 (2) : 211—216.

Csoknya M., Halácz N. 1973. Histological investigation on the intestine of Palingenia longicauda Oliv. (Ephemeroptera). Z. mikrosk.-anat. Forsch., 87 (4) : 561—572.

Hecker H., Freyvogel T. A. 1971. Zur Ultrastruktur der Mitteldarmepithelzellen bei männlichen und weiblichen Stechmücken (Aedes aegypti L.). Rev. suisse zool., 78 (3) : 573—574.

Khan M. A. 1964. Histological changes related to the secretion of digestive enzymes in the mid-gut and caeca of Locusta migratoria. Proc. Roy. Entomol. Soc. London, A39 (7—9) : 118—124.

Priester W. de. 1971. Ultrastructure of the midgut epithelial cells in the fly Calliphora erythrocephala. J. Ultrastruct. Res., 36 : 783—805.

Richards A. G. 1975. The ultrastructure of the midgut of haematophagous insects. Acta tropica, 32 (2) : 83—95.

Srivastava R. P. 1955. On the secretion and absorptive activity of the mid-gut of Periplaneta americana. Current Sci., 24 (9) : 57—58.

Wigglesworth V. B. 1931. Digestion in Chrysops silacea Aust. (Diptera, Tabanidae). Parasitology, 23 : 73—76.

THE MIDGUT EPITHELIUM ULTRASTRUCTURE OF HYBOMITRA SCHINERI (TABANIDAE)

S. Ju. Chaika

SUMMARY

The study of the midgut of *Hybomitra schineri* by means of electron microscopy has shown that epithelial cells are of cylindrical shape. According to the electron density of cytoplasm the cells can be arranged into three subtypes. The apical surface of all the cells is covered by microvilli with filamentous glycocalyx. The peritrophic membrane of the 1st type is formed in females only during the blood digestion. Two types of secretion of digestive enzymes (merocrine and macroapocrine ones) were found, the latter being prevalent at the carbohydrate feeding.

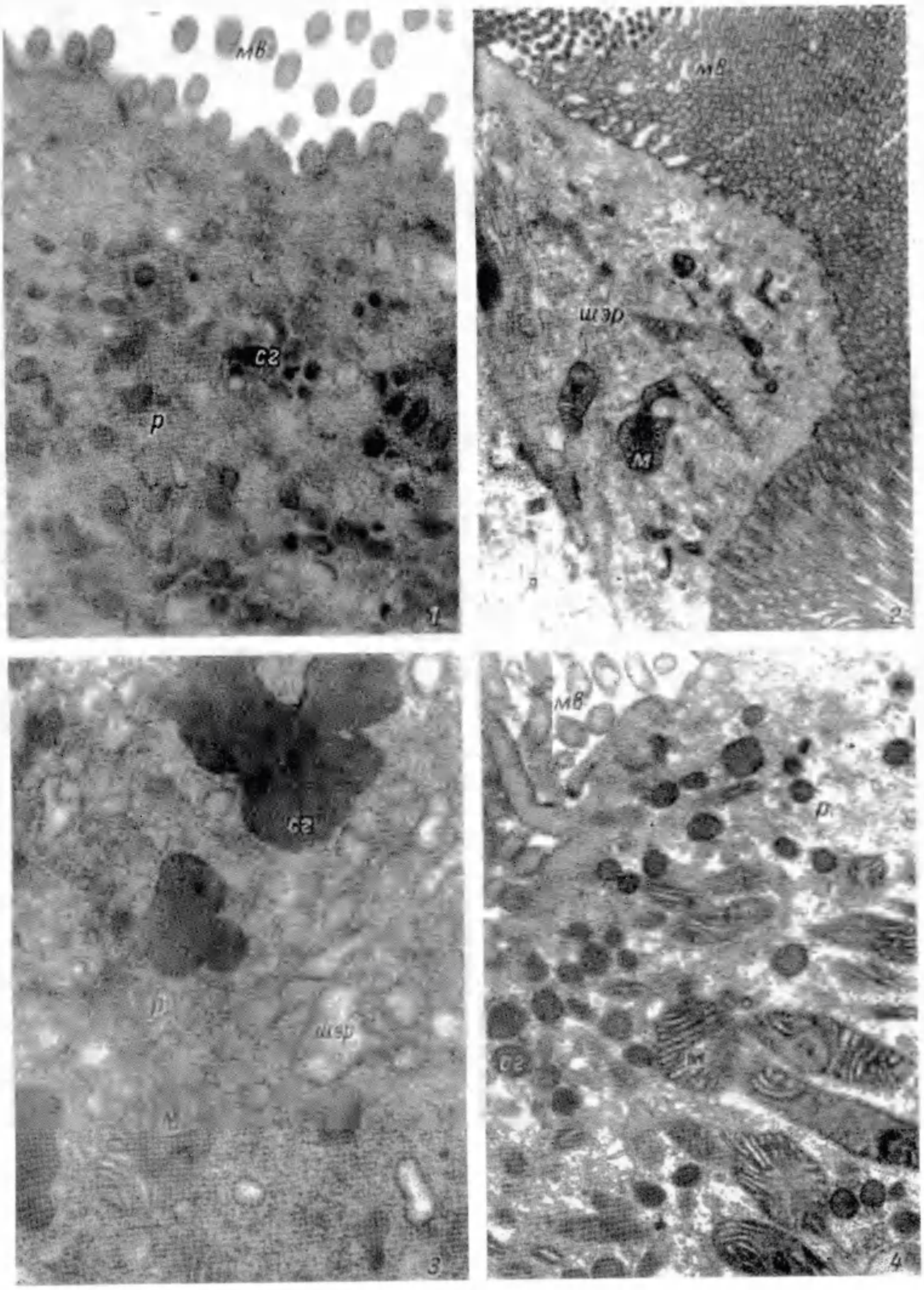

Рис. 1—10. Ультраструктура эпителиальных клеток средней кишки слепня *H. schineri.*

1 — клетка I подтипа; *2, 3, 4* — клетки II подтипа. Увел.: *1* — 18 000×; *2* — 7000×; *3* — 28 000× *4* — 20 000×. *м* — митохондрии; *мв* — микроворсинки; *р* — рибосомы; *сг* — секреторные гранулы, *шэр* — шероховатый эндоплазматический ретикулум; *я* — ядро.

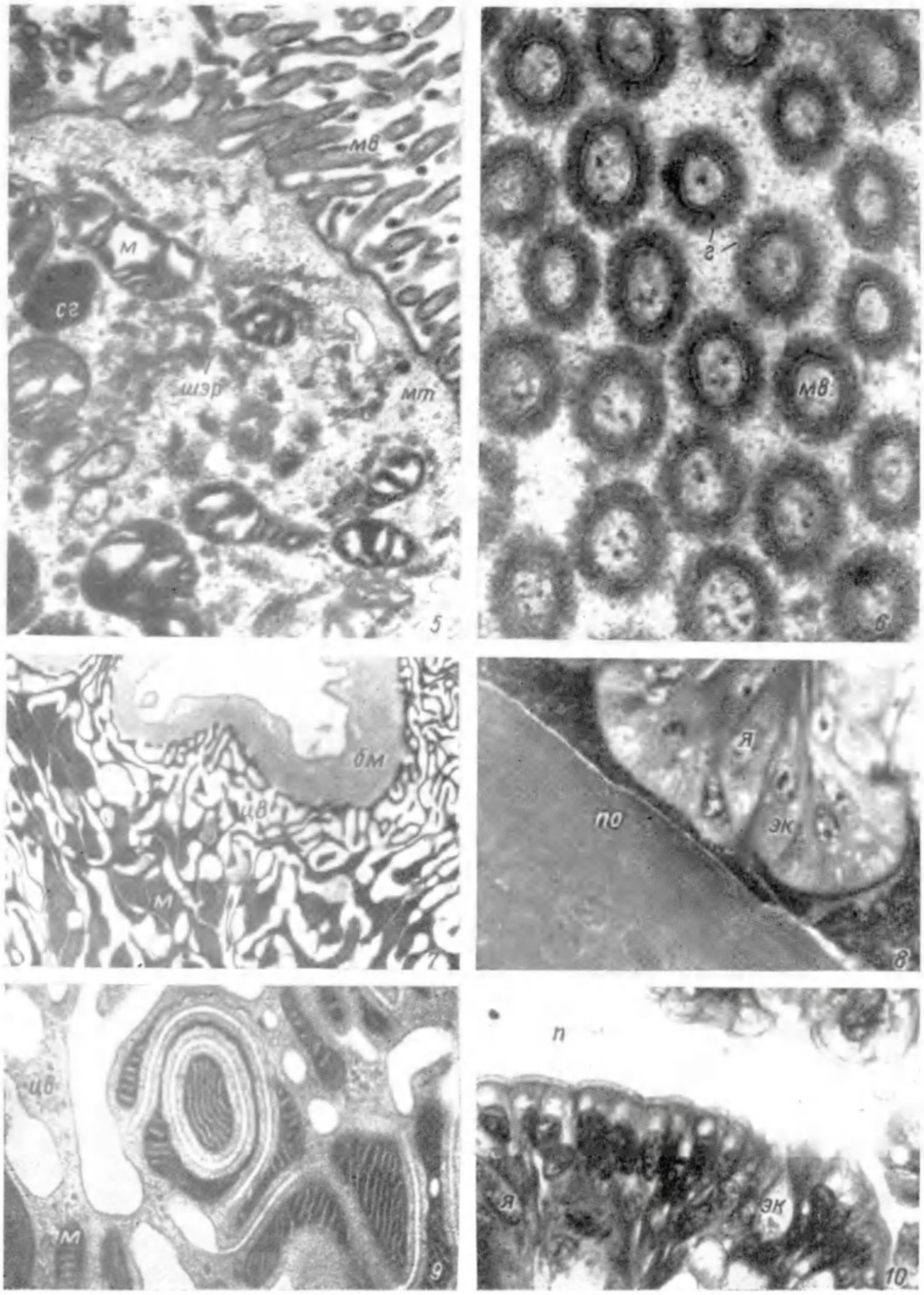

Рис. 5—10.

5 — участок клетки III подтипа; *6* — поперечный срез через микроворсинки; *7* — базальный отдел клетки; *8* — срез через среднюю кишку слепня, напитавшегося кровью; *9* — базальный отдел клетки, расположенной в месте впадения мальпигиевых сосудов; *10* — срез через среднюю кишку слепня после питания раствором глюкозы. Увел.: *5* — 14 000×; *6* — 80 000×; *7* — 7000×; *8* — об. 40×, ок. 10×; *9* — 25 000×; *10* — об. 20×, ок. 10×. *бм* — базальная мембрана; *г* — гликокаликс; *мт* — микротрубочки; *п* — полость средней кишки; *по* — перитрофическая оболочка; *цв* — цитоплазматические выросты; *эк* — эпидермальные клетки. Остальные обозначения, как на рис. 1—4.